

## 지대 및 품종(재배종)별 콩사포닌그룹B 함량의 비교

남정환\*, 정진철, 윤영호, 홍수영, 김수정, 진용익, 지삼녀, 김현삼, 옥현충<sup>1</sup>, 노주원<sup>2</sup>, 판철호<sup>2</sup>

농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구센터, <sup>1</sup>농촌진흥청 연구개발과, <sup>2</sup>한국과학기술연구원 강릉분원

### Comparison of Soyasaponin Group B Contents in Soybean Seed by Different Cultivars and Regional Background

Jung-Hwan Nam\*, Jin-Cheol Jeong, Young-Ho Yoon, Su-Young Hong, Su-Jeong Kim, Yong-Ik Jin Sam-Nyu Jee, Hyun-Sam Kim, Hyun-Chong Ok<sup>1</sup>, Chu-Won Nho<sup>2</sup> and Cheol-Ho Pan<sup>2</sup>

Highland Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, RDA, Pyeongchang 232-955, Korea

<sup>1</sup>Department of Research and Development, RDA headquarters, Suwon 441-707, Korea

<sup>2</sup>Korea Institute of Science and Technology (KIST) Gangneung Institute, Gangneung 210-340, Korea

**Abstract** - Contents of soyasaponin group B were compared according to two regions and ten varieties by HPLC. Those compounds were known to be beneficial for health. After soyasaponins were isolated and identified, those isolated compounds were used for HPLC analysis. The contents of soyasaponin were very different by regions but highest in the soybean with black seed coat. It was appeared that environmental difference for soybean growth could strongly change of soyasaponin contents.

**Key words** - Analyze, Isolation, Soyasaopinin, Soybean variety, Triterpenoid

## 서 언

콩은 쌍떡잎식물 장미목 콩과의 일년생 식물로서 학명은 *Glycine max*라 하며 중국이 원산이다. 일반적으로 대두(大豆)라고 불리며, 종자는 품종에 따라 둥근 모양과 평평하고 둥근모양 등 다양하고 크기도 매우 다양하다. 종자의 빛깔은 황색, 검은색, 연갈색, 초록색 등 여러 가지가 있다 (Britanica, 2010).

콩은 야생의 야생콩(덩굴콩)으로부터 재배작물로 발달하였다. 중국 동북부지방에서 야생콩과 콩의 중간형이 재배되고 이들의 변이형의 분포로 볼 때, 원산지는 중국 동북지방에서 화북(華北)에 걸친 지역으로 추정된다. 중국에서는 오곡의 하나로 4,000년 전부터 재배되었으며, 한국에는 삼국시대 초기부터 재배되었다는 기록이 있다(Heywood, 1991).

영양학적으로 콩은 '밭에서 나는 쇠고기'로 일컬어질 만큼 완전식품이라고 할 수 있다. 콩에는 다량의 단백질, 지

질, 탄수화물과 무기질이 포함되어 있다. 현대인의 식생활 변화로 고지방식이 늘어남에 따라 고지혈증과 같은 성인병 질환들이 증가하고 있는 것을 감안할 때 콩의 불포화지방산인 linoleic acid와 linolenic acid의 콜레스테롤 강화작용은 기존의 항고지혈제에 비견할만하다고 할 수 있을 것이다. 이외에도 콩의 phytosterol류에는 항산화 화합물인 토코페롤이 함유되어 있으며 estrogen effect를 갖는 comesterol도 포함되어 있다. 한편 콩의 탄수화물은 당질, 섬유질과 전분으로 구성되어 있으며, 이중 섬유질인 cellulose, raffinose, stachyose는 변비 및 직장암, 고혈압의 예방효과가 있다. 그 밖에도 콩의 대표적인 생리활성물질은 isoflavone, phytic acid, trypsininhibitor, saponin 등 여러 종류가 보고되어 있다(Oakenfull, 1981; Jung *et al.*, 2000; O *et al.*, 2003; Myung *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009).

콩의 화합물 중 극성 성분인 soyasaponin은 배당체로서 지용성 steroid 또는 triterpenoid ring에 1-개 이상의 sugar chain이 결합된 구조를 갖고 있으며, aglycon과 결

\*교신저자(E-mail) : conplab@korea.kr

합된 당의 수와 종류에 따라서 groupA saponin과 groupB saponin, 그리고 DDMP saponin으로 분류할 수 있다. 이와 같은 내용을 바탕으로 본 연구에서는 콩에서 대표적인 활성을 보이는 groupB saponin 중심으로 연구를 수행하였으며, 이를 이용하여 유효성분을 개발하고 건강보조식품화를 위해서는 우수한 품질의 원료공급이 원활하게 이루어져야 한다고 사료되므로 콩의 종류와 재배환경에 따른 soyasaponin 화합물을 정량·비교하였고, 그 중 고랭지와 평nan지를 비교하기 위해 진부(해발 600 m)와 강릉(해발 20 m) 지역을 선발하여 함량을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에 사용된 실험재료는 농촌진흥청 식량과학원에서 육성된 흑미콩 외 9개 품종(대풍, 은하, 일품, 소청, 태광, 풍산, 검정, 서목, 청자)을 사용하여 표고 600 m(고랭지: 진부)와 20 m(평nan지: 강릉) 지역에서 포장 시험재배를 실시하여 수확 후 시료로 사용하였다(Table 1).

### 기기 및 시약

화합물 분리와 구조동정 시 용점측정은 Electrothermal digital melting point apparatus, IA9100(Jepson Bolton, UK)를 사용하였다. NMR은 Varian Unity-Inova-500 spectrophotometer(Varian, USA)를 사용하였다. EI-MS spectrum은 JMS-700(Jeol, Japan)과 FAB-MS는 VG70-VSEG(VG Analytical, UK)를 사용 측정하였다. 컬럼 크로마토그래피용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck, Germany)과 LiChroprep C-18(Merck, Germany)을 사용하였고, molecular sieve 컬럼 크로마토그래피용 packing물질은 Sephadex LH-20(GE, USA)을 사용하였다. TLC plate는

Kiesel gel 60 F254 precoated plate(Merck, Germany)를 사용하였고, 박층 크로마토 그래피 발색시약은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Deajung chemical, Korea)사용하였으며 UV 254 nm, 365 nm detection(LF-206, Uvitec, UK)을 병행 하였다. 추출 및 컬럼 크로마토그래피용 용매는 1급 시약을, 기타시약은 1급 또는 특급을 각각 사용하였다. 화합물의 함량 분석실험 시 Waters(USA)사의 Alliancesystem을 이용하였고, 컬럼은 Hyper cil ODS C18(5 μm, 4.6 mm × 250 mm, YMC, Japan)을 사용하였으며, 이동상으로 사용된 용매는 HPLC 급이었다.

### 추출 및 분획

건조중량 약 20 kg의 10종의 콩 각각을 동량으로 혼합하여 상온에서 메탄올로 환류냉각 하에 3회 가열 추출하였다. 추출액을 감압 농축하여 메탄올 엑기스 720 g를 얻었다. 이를 chloroform(CHCl<sub>3</sub>), ethyl-acetate(EtOAc), *n*-butanol (BuOH)로 용매분획 하였다.

### 조사포닌의 제조

조사포닌을 제조하기 위하여 *n*-butanol분획 후 감압 농축한 분획물을 증류수 800 ml에 현탁하여 100 g의 활성탄으로 충전된 컬럼에 통과시켰다. 용출액을 농축한 후 Diaion HP-20(1 kg, 5 × 100 cm)에서 증류수 10 L로 전개하여 당분획을 제거한 다음, 3 L의 메탄올로 용출하여 농축하였으며, 이를 조사포닌 분획으로 하였다.

### Soyasaponin의 분리

*n*-butanol 분획을 농축 후 H<sub>2</sub>O:MeOH(100:0~0:100)을 유출 용매로 하여 DIAION HP-20 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 5개의 분획(SB1~SB5)으로 나누었으며, 그 중 SB3 분획을 메탄올(100%)을 전개용 매로 이용한 Sephadex LH

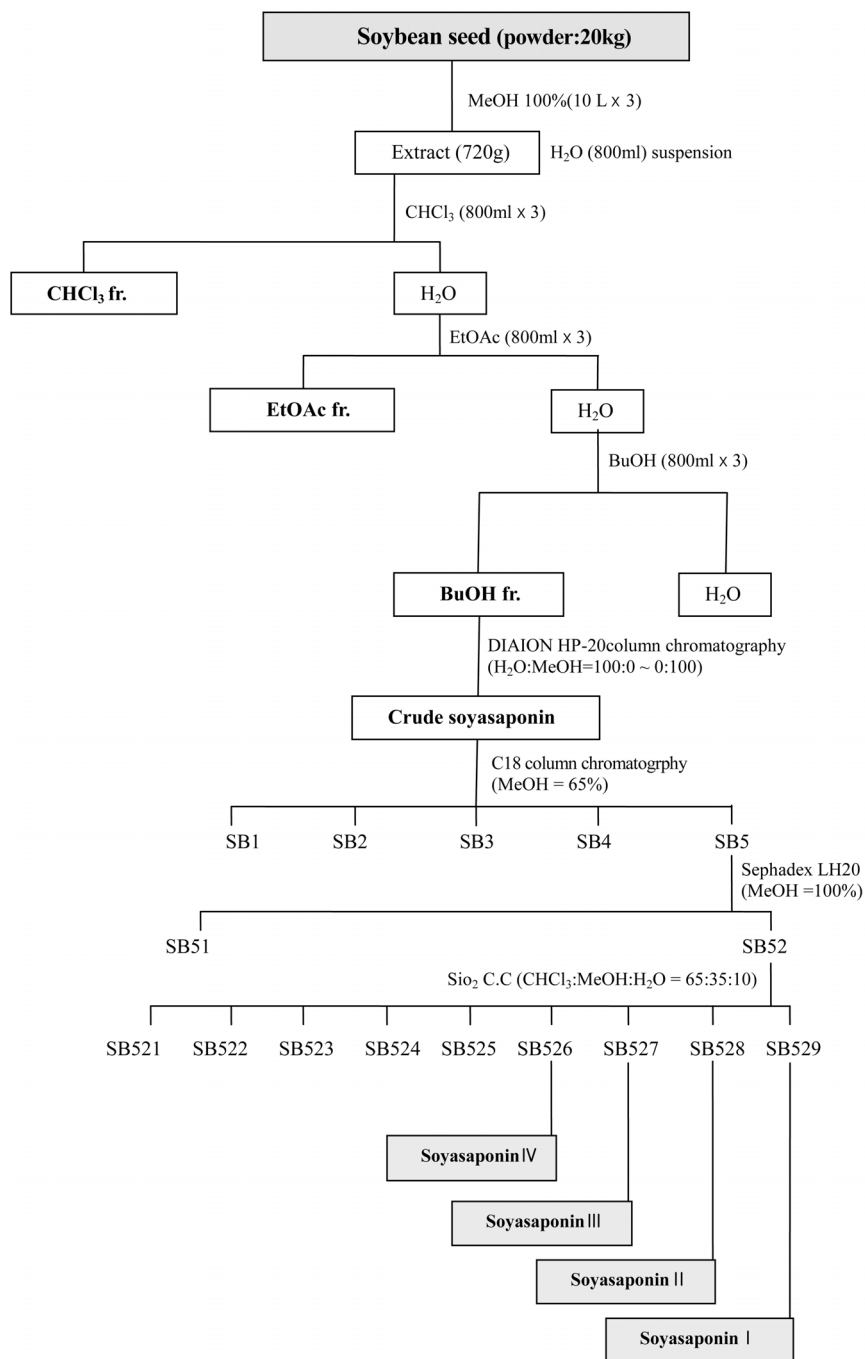
Table 1. External color of 10 soybeans

External color		Variety (abbreviation)	
Seed coat	Cotyledon		
Yellow	Yellow	Taekwang (TK) Pungsan (PS)	Daepung (DP) Eunha (EH)
Black	Yellow	Ilpum (IP)	Geomjung (GJ)
Black	Green	Chungja (CJ) Sochung (SC)	Heukmi (HM) Seomok (SM)

-20 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 2개의 분획(SB51-SB52)으로 나누고 다시 CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O(65:35:10)을 용매로 하여 SiO<sub>2</sub> 컬럼 크로마토그래피 실시 후 정제하여 9개의 분획(SB521~SB529)으로 나누었다. 이중 분획SB526~SB529는 TLC를 이용하여 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 시약으로 발색하여 r.f(rate of flow) 수치가 서로 상이한 흰색 분말상 화합물 4종을 분리

하였다(Scheme 1).

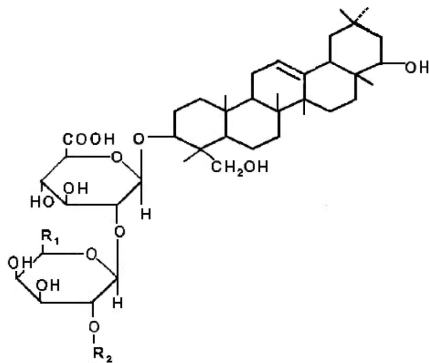
본 화합물의 구조결정은 표준품과 융점, 선광도, I.R, U.V 스펙트럼, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼 자료를 문헌치와 비교동정하여 구조를 확정하였다(Fig. 1, 2; Burrows *et al.*, 1987; Kim *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2009).



Scheme 1. Isolation of four compounds from soybean seed.

**표준액의 제조 및 검량선 작성**

사포닌의 함량을 측정하기 위하여 크로마토그래피를 통하여 분리된 soyasaponin I, II, III, IV를 80% 메탄올에 녹여 검량선 작성을 위한 표준액으로 사용하였다. 표준액을 100, 250, 500, 1000 µg/g의 농도로 제조한 후 HPLC



Soyasaponin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
I	CH <sub>2</sub> OH	α-L-Rha
II	H	α-L-Rha
III	CH <sub>2</sub> OH	H
IV	H	H

Fig. 1. The structure of four soyasaponin compounds isolated from soybean seed.

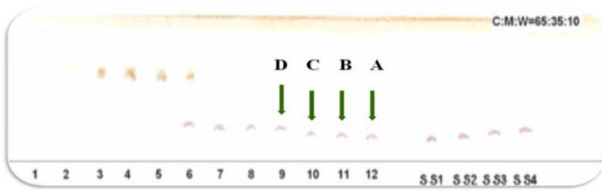


Fig. 2. TLC profile of four soyasaponins isolated from soybean seed.

(A: soyasaponin I, B: soyasaponin II, C: soyasaponin III, D: soyasaponin IV)

Table 2. Regression curve equations of four standard compounds of soyasaponins

Soyasaponin	Retention time	Equation and R <sup>2</sup>
I	7.00	y = 1164.34x R <sup>2</sup> = 0.99
II	9.87	y = 66.67x R <sup>2</sup> = 0.99
III	7.16	y = 52.00x R <sup>2</sup> = 0.99
IV	8.03	y = 54.25x R <sup>2</sup> = 0.99

x (concentration, µg/g), y (area, mv).

로 측정하였으며 측정된 피크의 면적값에 대한 검량선을 작성하였다. 각 사포닌의 회귀방정식과 R<sup>2</sup>값은 Table 2와 같으며 HPLC분석조건은 아래의 soyasaponin 분석법을 사용하였다(Table 2; Kim *et al.*, 2007).

**Soyasaponin의 분석**

콩으로부터 분리된 soyasaponin을 80% 메탄올에 녹인 다음 이를 0.5 µm syringe filter로 여과하였고 HPLC분석을 위한 시료로 사용하였다. soyasaponin I, II는 이동상으로는 solvent A는 0.1% acetic-acid를 함유한 water, solvent B는 100% acetonitrile을 이용하였다. 이때 시간에 따른 이동상 조건(% solvent A:% solvent B)은 60 min(58:42)에 따라 분석하였고, soyasaponin III, IV는 이동상으로 solvent

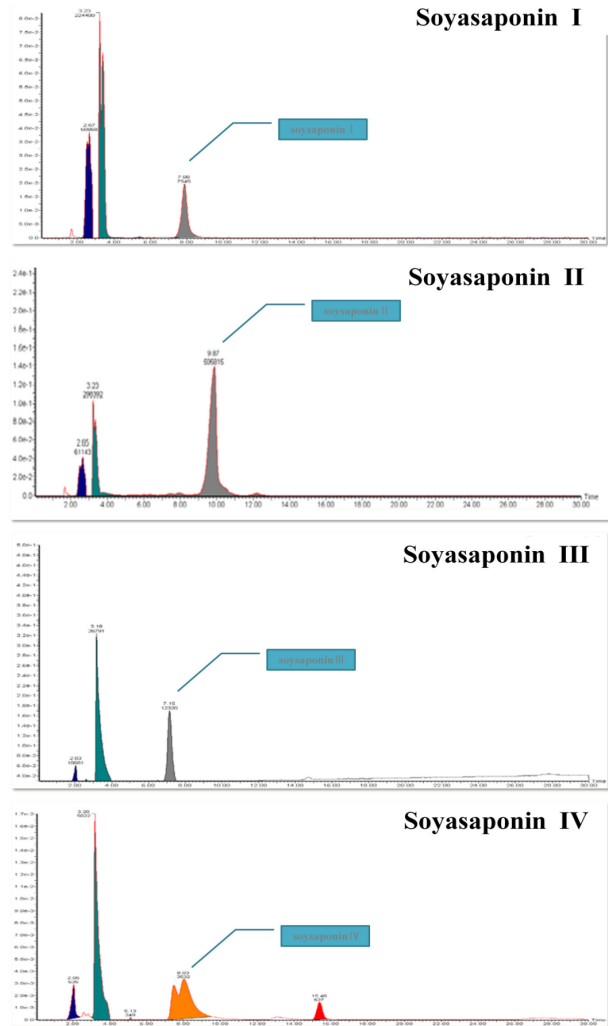


Fig. 3. HPLC chromatogram of the soyasaponin fraction obtained from soybean seed.

는 0.1% acetic acid를 함유한 water를 이용하였다. 이 때 시간에 따른 이동상 조건(% solvent A)은 30 min(isocratic solvent)에 따라 분석하였고, 모두 20 $\mu$ l를 주입하였고, 유속은 1.0 ml/min로 조절하였으며, UV detector의 검출파장은 210 nm였다. Soyasaponin을 메탄올에 용해시켜 0.1~25  $\mu$ g/ml 범위의 표준용액을 조제하여 HPLC 분석을 실시하고 peak area로부터 검량선을 작성하였다(Fig. 3; Lee *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2009).

## 결과 및 고찰

### Soyasaponin I의 함량 비교

Soyasaponin I의 함량은 재배 지대간인 평안지와 고령지를 비교 시 종실이 검정색 종피인 흑미, 소청, 검정, 청자가 두 지역 모두 비슷한 수치의 함량을 나타냈으며, 노란색 종피의 풍산이 가장 낮은 함량을 보였다. 품종별로는 평안지의 검정색 종피의 서목(쥐눈이콩)이 32.9  $\mu$ g/g으로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로는 흑미(32.6  $\mu$ g/g)와 태광(26.1  $\mu$ g/g) 순이었다(Fig. 4).

### Soyasaponin II의 함량 비교

Soyasaponin II의 함량은 재배지대간인 평안지와 고령지를 비교 시 종실이 검정색 종피인 흑미, 청자가 두 지역

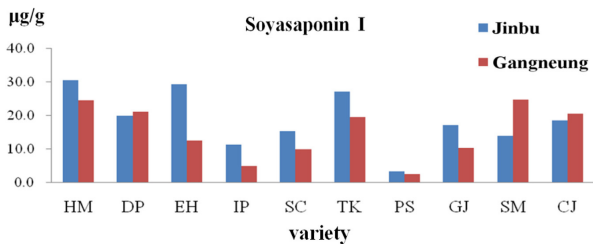


Fig. 4. Contents of soyasaponin I by region and variety.

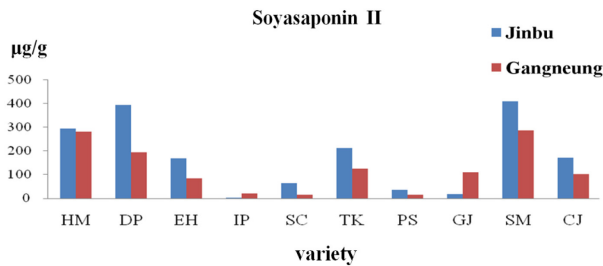


Fig. 5. Contents of soyasaponin II by region and variety.

모두 비슷한 수치의 함량을 나타냈으며, 품종별로는 고령지의 서목(쥐눈이콩)이 408.8  $\mu$ g/g으로 가장 높게 나타났고, 가장 낮은 함량을 보이는 것은 검정색 종피의 일품이었다. 특히 사항으로 평안지의 서목(쥐눈이콩)과 비교 시 soyasaponin II의 함량이 약 5배 정도의 매우 큰 차이를 보였다(Fig. 5).

### Soyasaponin III의 함량 비교

Soyasaponin III의 함량은 재배지대간인 평안지와 고령지를 비교 시 종실이 검정색 종피인 흑미, 소청, 검정, 서목(쥐눈이콩)이 평안지 재배지역에서 높은 함량을 나타내었고, 품종별로는 평안지의 검정색 종피의 소청이 653.9  $\mu$ g/g으로 가장 높게 나타났으며, 고령지의 소청과 비교 시 soyasaponin III의 함량이 약 3.5배 정도의 큰 차이를 보였다. 그 다음으로는 흑미(589.6  $\mu$ g/g)와 서목(503.5  $\mu$ g/g)순 이었다. 특히 사항으로 평안지의 노란색 종피인 태광은 soyasaponin III가 검출되지 않았다(Fig. 6).

### Soyasaponin IV의 함량 비교

Soyasaponin IV의 함량은 재배지대간인 평안지와 고령지를 비교 시 종피색과 상관없이 고령지에서는 흑미, 대풍, 은하, 일품, 검정, 서목, 청자가 높은 함량을 나타냈고 평안지에서는 소청과, 태광, 풍산이 높은 함량을 나타내었다. 품종별로는 평안지의 검정색 종피의 소청이 994.3  $\mu$ g/g으로

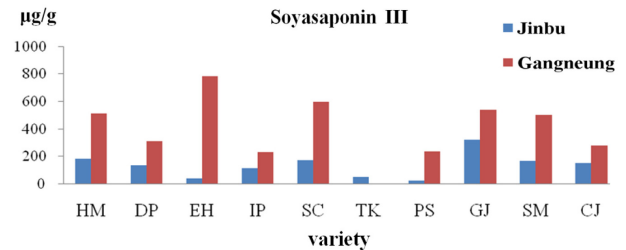


Fig. 6. Contents of soyasaponin III by region and variety.

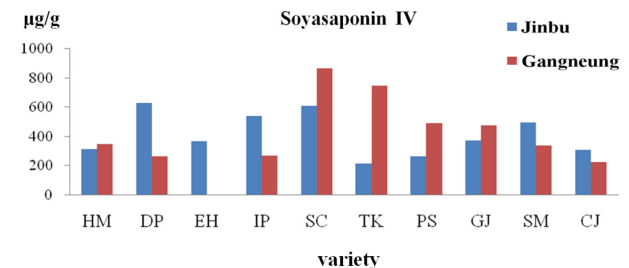


Fig. 7. Contents of soyasaponin IV by region and variety.

가장 높게 나타났으며 고랭지의 소청과 비교 시 soyasaponin IV의 함량이 약 2배 정도의 급격한 차이를 보였다. 특이사항으로 평남지의 노란색 종피인 은하가 soyasaponin IV가 검출되지 않았다(Fig. 7; Kim, 2003).

지대 및 품종별로 재배된 콩의 soyasaponin group B 즉 soyasaponin I, II, III, IV의 함량은 soyasaponin의 종류에 따라 차이를 보였으며 콩의 유전적인 요인 이외에도 환경적인 요인도 soyasaponin 함량에 영향을 미치는 것으로 확인할 수 있었다. 재배종에 따라 지대간 soyasaponin I~IV의 함량이 각각의 차이를 보였는데 soyasaponin I은 평남지의 서목이 32.9  $\mu\text{g/g}$ 로 가장 높게 나타났으며, soyasaponin II는 고랭지의 서목이 408.8  $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높게 나타났으며, soyasaponin III는 평남지의 소청이 653.9  $\mu\text{g/g}$ 로 가장 높게 나타났으며, soyasaponin IV는 평남지의 소청이 994.3  $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높게 나타났다. 대부분 자엽색이 녹색이고 종피색이 검정색인 콩이 soyasaponin group B의 함량이 높은 것을 확인 할 수 있었다. 그리고 환경적 요인에 따른 재배종 및 야생종간의 soyasaponin 성분의 함량비교 연구에 대해서는 아직 연구가 미미한 편인데 앞으로 soyasaponin 성분의 생리활성 연구를 제고하기 위해서는 이와 관련된 연구가 반드시 이루어져야 할 것으로 사료되는 바이다.

## 적 요

Soyasaponin group B함량의 재배지대간 비교에서는 고랭지와 평남지에서 상이한 차이를 보였으며 품종 간에는 대부분 자엽색이 녹색이고 종피색이 검정색인 콩의 soyasaponin group B함량이 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 soyasaponin성분의 함량은 재배종의 종류 즉 유전적인 요인뿐만 아니라 고랭지와 평남지처럼 환경적 요인이라고 것을 확인할 수 있었으며 이는 식물이 환경적인 스트레스에 대한 생명유지 및 공격방어물질(Secondary metabolites, 이차대사산물)이 식물내 생합성과정 중에서 변이를 보이는 것으로 사료되어 진다.

## 사 사

본 연구는 고령지농업연구센터와 한국과학기술연구원 강릉분원의 공동연구사업(대관령프로그램)으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

## 인용문헌

- Burrows, J.C., K.R. Price and G.R. Fenwick. 1987. Soyasaponin IV, an additional monodesmosidic saponin iso-lated from soybean. *Phytochemistry* 26:1214-1215.
- Chang, S.Y., M.J. Han, S.J. Han and D.H. Kim. 2009. Metabolism of soyasaponin 1 by human intestinal microflora and its estrogenic and cytotoxic effects. *Biomol. & Therap.* 17:430-437.
- E-journal, <http://preview.britannica.co.kr>. 2010. *Soybean cultivar*. Encyclopaedia Britannica Online Korea.
- Heywood, V. H. 1993. Flowering plants of the world. Oxford University Press, New York, USA. p. 35.
- Jung, W.T., H. J. Park and J.W. Lee. 2000. Nutraceuticals in Korean food. Hongik Tech Press, Seoul, Korea. p. 3 (in Korean).
- Kim, M.Y., Y.M. Yoo, J.H. Nam, J.W. Choi and H.J. Park. 2007. Quantitative determination on the constituents of the stem bark and the leaf shoot of *Kalopanax pictus* by HPLC analysis. *Korean J. Pharmacogn.* 38:270-276 (in Korean).
- Kim, J.H., Y. Yoshiki and K. Okubo. 1994. Relationships among various types in saponin content of soybean seeds. *Korean Soy. Dige.* 11:55-61 (in Korean).
- Kim, Y.H. 2003. Biological activities of soyasaponins and their genetic and environmental variations in soybean. *Korean J. Crop Sci.* 48:49-57 (in Korean).
- Kim, S.L., M.H. Bang, J.T. Kim, H.Y. Chi, I.M. Chung, H.B. Kim and M.A. Berhow. 2006. Isolation and structural analysis of acetyl soyasaponin A1 from hypocotyl of soybean. *Korean J. Crop Sci.* 51:166-173 (in Korean).
- Kim, J.I. and M.J. Kang. 2009. Soybean health benefits of applications in food. *Korean Soy. Dige.* 26:1-9 (in Korean).
- Lee, Y.B., H.J. Lee, C.H. Kim, S.B. Lee and H.S. Sohn. 2005. Soyisoflavones and soyasaponins: characteristics and physiological functions. *J. Appl. Bio. Chem.* 48:49-57 (in Korean).
- Lee, S.H., J.G. Won, J.S. Choi, D.J. Ahn, K.Y. Choi, W.G. Lee, S.D. Park and J.K. Son. 2005. Comparison of rice quality according to agroclimatic regions in gyeongbuk province. *Korean J. Crop Sci.* 50:94-98 (in Korean).
- Lee, J.J., A.R. Kim, Y.N. Seo and M.Y. Lee. 2009. Comparison of physicochemical composition of three species of genus angelica. *Korean J. Food Preserv.* 16:94-97 (in Korean).
- Myung, J.E. and I.K. Hwang. 2008. Functional component and antioxidative activities of soybean extract. *Korean Soy. Dige.* 25:135-135 (in Korean).

O, B.Y., B.H. Park and G.S. Ham. 2003. Changes of saponin during the cultivation of soybean sprout. Korean J. Food Sci. Technol. 35:1039-1044 (in Korean).

Oakenfull, D.1981. Saponin in food. Food Chem. 6:19-40.

Kang, N.S.S. Pyo and E.H. Sohn. 2009. Inhibitory effects of allicin on TNF- $\alpha$ -induced ICAM-1 expression is associated with catalase. J. Korean Plant Res. 22(6):552-557.

(Received 28 October 2010 ; Revised 31 January 2012 ; Accepted 24 May 2012)